

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19)世界知的所有権機関
国際事務局



(43)国際公開日
2005年8月11日 (11.08.2005)

PCT

(10)国際公開番号
WO 2005/072534 A1

(51)国際特許分類⁷: A23F 5/24, 5/16
都市貝町赤羽2606 花王株式会社研究所内 Tochigi (JP).

(21)国際出願番号: PCT/JP2005/001093

(22)国際出願日: 2005年1月27日 (27.01.2005)

(25)国際出願の言語: 日本語

(26)国際公開の言語: 日本語

(30)優先権データ:
特願2004-024246 2004年1月30日 (30.01.2004) JP
特願2004-379782 2004年12月28日 (28.12.2004) JP

(71)出願人(米国を除く全ての指定国について): 花王株式会社 (KAO CORPORATION) [JP/JP]; 〒1038210 東京都中央区日本橋茅場町1丁目14番10号 Tokyo (JP).

(72)発明者; よび

(75)発明者/出願人(米国についてのみ): 藤井 明彦 (FUJII, Akihiko) [JP/JP]; 〒3213497 栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会社研究所内 Tochigi (JP). 山崎 良恵 (YAMASAKI, Yoshie) [JP/JP]; 〒3213497 栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会社研究所内 Tochigi (JP). 大南 英雄 (OOMINAMI, Hideo) [JP/JP]; 〒3213497 栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会社研究所内 Tochigi (JP). 落合 龍史 (OCHIAI, Ryuji) [JP/JP]; 〒3213497 栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会社研究所内 Tochigi (JP). 渋谷 祐輔 (SHIBUYA, Yusuke) [JP/JP]; 〒3213497 栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会社研究所内 Tochigi (JP).

(74)代理人: 特許業務法人アルガ特許事務所 (THE PATENT CORPORATE BODY ARUGA PATENT OFFICE); 〒1030013 東京都中央区日本橋人形町1丁目3番6号共同ビル Tokyo (JP).

(81)指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84)指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ヨーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 國際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドスノート」を参照。

(54) Title: COFFEE DRINK COMPOSITION

(54)発明の名称: コーヒー飲料組成物

(57) Abstract: It is intended to provide a coffee drink forming no hydrogen peroxide *in vivo* even in prolonged intake. Namely, a coffee drink composition which contains from 0 to 0.00005% by mass of hydroxyhydroquinone.

(57)要約: 長期飲用しても体内で過酸化水素を生成しないコーヒー飲料の提供。 ヒドロキシヒドロキノン含有量が0~0.00005質量%であるコーヒー飲料組成物。

A1

WO 2005/072534 A1

明細書

コーヒー飲料組成物

技術分野

[0001] 本発明は、長期飲用しても体内での過酸化水素の発生を抑制することができるコーヒー飲料組成物に関する。

背景技術

[0002] 活性酸素の一つである過酸化水素は、変異原性、癌原性等の他、動脈硬化症、虚血性心疾患等の循環器系疾患、消化器疾患、アレルギー疾患、眼疾患など多くの疾患に深く関与しているといわれている(非特許文献1)。一方、コーヒーには、焙煎によって自然発生する過酸化水素が含まれており(非特許文献2)、カタラーゼ、ペルオキシダーゼ、抗酸化剤(特許文献1~4)等を添加することにより、コーヒー中の過酸化水素を除去する技術が報告されている。

非特許文献1:栄養-評価と治療 19, 3(2002)

非特許文献2:Mutat. Res. 16, 308(2)(1994)

特許文献1:特公平4-29326号公報

特許文献2:特開平3-127950号公報

特許文献3:特開平11-266842号公報

特許文献4:特開2003-81824号公報

発明の開示

[0003] 本発明は、ヒドロキシヒドロキノン含有量が0~0.00005質量%であるコーヒー飲料組成物及びその製造法を提供するものである。

[0004] また、本発明は、ヒドロキシヒドロキノン含有量が0~0.001質量%であるソリュブルコーヒー組成物及びその製造法を提供するものである。

[0005] 更に本発明は、ヒドロキシヒドロキノン含有量が0~0.00005質量%であるコーヒー飲料組成物を充填した容器詰飲料を提供するものである。

[0006] また、本発明は高速液体クロマトグラフィーによる分析における、ガリックアシッド(没食子酸)を標準物質とした場合のガリックアシッドに対する相対保持時間が0.54~0

- 61の時間領域に、実質的にピークを有しないことを特徴とするコーヒー飲料組成物、及びこれを充填した容器詰飲料を提供するものである。

図面の簡単な説明

- [0007] [図1]焙煎コーヒーが体内過酸化水素に与える影響（ヒト）を示す図である。
- [図2]過酸化水素除去コーヒーが体内過酸化水素量に与える影響を示す図である。
- [図3]体内で過酸化水素を生成させるコーヒー中の成分を示す図である。
- [図4]ヒドロキシヒドロキノンが体内過酸化水素生成に及ぼす作用を示す図である。
- [図5]コーヒーQのHPLCチャート（検出波長258 nm）を示す図である。
- [図6]コーヒーQのHPLCチャート（検出波長288 nm）を示す図である。
- [図7]活性炭処理コーヒーがラットの体内過酸化水素量に与える影響を示す図である。
＊＊；蒸留水群に対して危険率1%以下で有意差あり。
- [図8]活性炭処理コーヒーがヒトの体内過酸化水素量に与える影響を示す図である。
＊；活性炭処理コーヒー飲用群に対して危険率5%以下で有意差あり。
＊＊；活性炭処理コーヒー飲用群に対して危険率1%以下で有意差あり。

発明の実施の形態

- [0008] 本発明者らが、過酸化水素を除去したコーヒーをラットに引用させたところ、体内で過酸化水素が生成し、尿中過酸化水素濃度が上昇することが判明した。すなわち、従来の、コーヒー飲料中の過酸化水素除去技術によっては、コーヒー飲用後に体内での過酸化水素生成を抑制することはできなかった。
- [0009] 従って、本発明は、飲用後に体内で過酸化水素を生成させないコーヒー飲料組成物を提供することにある。
- [0010] そこで本発明者は、コーヒー中の何らかの成分が生体内において過酸化水素を生成させるのではないかとの仮説に基づき、種々検討した結果、コーヒー中に含まれるヒドロキシヒドロキノンに、生体内で過酸化水素を生成させる作用があること、及びヒドロキシヒドロキノンの含有量を通常含まれる量より十分に少ない0~0.00005質量%に制御すれば、生体内で過酸化水素生成を増加させないコーヒー飲料が得られるこ

とを見出した。

[0011] 本発明のコーヒー飲料組成物を飲用しても生体内で過酸化水素を生成しない。従って、本発明のコーヒー飲料組成物は、安全性の高い飲料として有用である。

[0012] 本発明のコーヒー飲料組成物は、ヒドロキシヒドロキノン含有量が0～0.00005質

量%に調整されており、本発明のソリュブルコーヒー組成物は、ヒドロキシヒドロキノン含有量が0～0.001質量%に調整されていることを特徴とする。ヒドロキシヒドロキノン含有量が上記範囲内である場合には、これらの組成物を飲用したときに生体内での過酸化水素の発生が抑制される。コーヒー飲料組成物中の好ましいヒドロキシヒドロキノン含有量は、0～0.00003質量%であり、より好ましくは0～0.00001質量%である。ソリュブルコーヒー組成物中の好ましいヒドロキシヒドロキノン含有量は0～0.0003質量%であり、より好ましくは0～0.0001質量%である。

- [0013] 当該ヒドロキシヒドロキノン含量は、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により測定することができる。HPLCにおける検出手段としては、UV検出が一般的であるが、CL(化学発光)検出、EC(電気化学)検出、LC-Mass検出等により更に高感度で検出することもできる。なお、HPLCによるヒドロキシヒドロキノン含量の測定にあたっては、コーヒー飲料を濃縮した後に測定することもできる。
- [0014] 更にヒドロキシヒドロキノン含量は、HPLCで直接測定することもできるが、コーヒー飲料組成物又はソリュブルコーヒー飲料組成物から、各種クロマトグラフィーによりヒドロキシヒドロキノンを濃縮して、その濃縮画分の量を測定することによっても定量できる。なお、ヒドロキシヒドロキノン量の測定にあたっては、容器詰飲料の場合には開封後直ちに、例えば0.1N(規定)の塩酸を加えて、pH3以下の酸性溶液に調整して測定するのが好ましい。
- [0015] ヒトが通常の市販のインスタントコーヒー2杯(280g)を飲用すると、尿中過酸化水素量は有意に増加する(図1)。一方、通常のコーヒー及び過酸化水素除去コーヒーを摂取したラットの尿中過酸化水素增加は同程度であった(図2)。このことから、コーヒー中に含まれる過酸化水素により、飲用後の尿中過酸化水素量が増加しているのではなく、コーヒー中に含まれる何らかの成分が生体内で過酸化水素を生成させていることは明らかである。
- [0016] そこで本発明者は、コーヒー中に含まれる種々の成分の体内での過酸化水素生成能について検討した。その結果、ヒドロキシヒドロキノンは通常、市販のコーヒー中に0.2～3mg／190g含まれているが、極めて少量の摂取でも体内過酸化水素生成を増加させる作用を有し(図3、4)、ヒドロキシヒドロキノン含有量を0.00005質量%以

下に調整したコーヒーを摂取した場合には、体内での過酸化水素生成抑制することが判明した(図7)。

- [0017] 本発明のコーヒー飲料組成物及びソリュブルコーヒー組成物は、ヒドロキシヒドロキノン含有量を低減させる以外は、通常のコーヒー成分をそのまま含有しているのが好ましい。
- [0018] 本発明のコーヒー飲料組成物は、コーヒー飲料組成物100gを基準とした場合に、カリウムを30～300mg／100g、更に40～250mg／100g、特に50～200mg／100g含むのが好ましい。また本発明のソリュブルコーヒー組成物には、ソリュブルコーヒー組成物1gを基準として、カリウムを20～200mg／1g、更に30～180mg／1g、特に40～150mg／1g含むのがコーヒー本来の風味の点で好ましい。カリウム濃度の測定は、例えば原子吸光光度法を用いて測定することができる。カリウム量を上記範囲にするためには、コーヒー飲料組成物の製造過程で、カリウムを積極的に除去する等の操作を行わないのが好ましい。
- また、本発明のコーヒー飲料組成物は、コーヒー飲料組成物100gを基準とした場合に、灰分の量が280mg以下、更には250mg以下、より更には220mg以下、特に200mg以下であることがコーヒー本来の風味の点で好ましい。灰分の測定は、四訂日本食品標準成分表(昭和57年発行、科学技術庁資源調査委員会編集、28頁)記載の方法に準拠し、550°Cで加熱し残存炭素がなくなり恒量となるまで灰化する方法を用いて測定することができる。灰分の量を上記範囲にするためには、コーヒー飲料組成物の製造過程で、強アルカリで処理した後に酸を用いて中性領域に戻すなどの、灰分の量が多くなる操作を行わないのが好ましい。
- [0019] また本発明のコーヒー飲料組成物は、 H_2O_2 (過酸化水素)の含有量が1ppm以下、更に0.1ppm以下、特に0.01ppm以下であるのがコーヒー本来の風味の点で好ましい。過酸化水素の測定は通常用いられる過酸化水素計を用いて行うことができ、例えば、セントラル科学社製の高感度過酸化水素計スーパーオリテクターMODEL5(SUPER ORITECTOR MODEL5)等を用いることができる。
- [0020] 本発明のコーヒー飲料組成物に用いるコーヒー豆の種類は、特に限定されないが、例えばブラジル、コロンビア、タンザニア、モカ等が挙げられる。コーヒービー種としては、

アラビカ種、ロブスタ種などがある。コーヒー豆は1種でもよいし、複数種をブレンドして用いてもよい。焙煎コーヒー豆の焙煎方法については特に制限はなく、焙煎温度、焙煎環境についても何ら制限はなく、通常の方法を採用できる。更にその豆からの抽出方法についても何ら制限はなく、例えば焙煎コーヒー豆又はその粉碎物から水一熱水(0～100°C)を用いて10秒～30分抽出する方法が挙げられる。抽出方法は、ボイリング式、エスプレッソ式、サイホン式、ドリップ式(ペーパー、ネル等)等が挙げられる。

- [0021] 本発明のコーヒー飲料組成物は、100gあたりコーヒー豆を生豆換算で1g以上使用したものをいう。好ましくはコーヒー豆を2.5g以上使用しているものである。更に好ましくはコーヒー豆を5g以上使用しているものである。本発明のコーヒー飲料組成物を容器詰飲料とする場合には、シングルストレンジングであることが好ましい。ここでシングルストレンジングとは、容器詰飲料を開封した後、常態として薄めずにそのまま飲めるものをいう。
- [0022] 本発明のコーヒー飲料組成物又はソリュブルコーヒー組成物は、焙煎コーヒー豆抽出物を吸着剤処理してヒドロキシヒドロキノン含量を低減させることにより得られる。吸着剤としては、活性炭、逆相担体などが挙げられる。より具体的には、焙煎コーヒー豆抽出液又は焙煎コーヒー豆抽出液の乾燥品の水溶液に、吸着剤を加え0～100°Cで10分～5時間攪拌した後、吸着剤を除去すればよい。ここで、吸着剤は、焙煎コーヒー豆重量に対して活性炭の場合は0.02～1.0倍、逆相担体の場合は2～100倍用いるのが好ましい。ここで活性炭としては、塩化亜鉛法又は水蒸気賦活化法により活性化されたものが挙げられるが、水蒸気賦活化法により活性化されたものが好ましい。活性炭の種類としては、ヤシ殻活性炭が好ましく、更に水蒸気賦活化ヤシ殻活性炭が好ましい。活性炭の市販品としては、白鷺WH₂C(日本エンバイロケミカルズ)、太閤CW(二村化学)、クラレコールGW(クラレケミカル)等を用いることができる。逆相担体としては、YMC・ODS-A(YMC)、C18(GLサイエンス)等が挙げられる。
これらの吸着剤処理法のうち、活性炭を用いた吸着剤処理法はクロロゲン酸類量を低下させることなく選択的にヒドロキシヒドロキノン含量を低減させることができるだけ

でなく、工業的にも有利であり、更にカリウム含量を低下させない(質量比で1／5以上、特に1／2以上保持)点からも好ましい。

- [0023] また、本発明のコーヒー飲料組成物又はソリュブルコーヒー組成物中のヒドロキシヒドロキノン量は、高速液体クロマトグラフィーによりガリックアシッドを標準物質とした場合のガリックアシッドに対する相対保持時間が0. 54～0. 61の時間領域のピークとして検出することができる。従って、本発明のコーヒー飲料組成物は、高速液体クロマトグラフィーによる分析において、ガリックアシッドを標準物質とした場合のガリックアシッドに対する相対保持時間が0. 54～0. 61の時間領域に、実質的にピークを有しないことを特徴とするコーヒー飲料組成物と規定できる。また、本発明のソリュブルコーヒー組成物は、高速液体クロマトグラフィーによる分析において、ガリックアシッドを標準物質とした場合のガリックアシッドに対する相対保持時間が0. 54～0. 61の時間領域に、実質的にピークを有しないことを特徴とするソリュブルコーヒー組成物と規定できる。尚、この規定における高速液体クロマトグラフィーの分析条件は、後述の分析条件Bによるものである。
- [0024] 本発明におけるコーヒー組成物が、高速液体クロマトグラフィーによる分析における、ガリックアシッドを標準物質とした場合のガリックアシッドに対する相対保持時間が0. 54～0. 61の時間領域に実質的にピークを有しないことを確認するには、一般的なHPLCを使用することができ、例えば溶離液として0. 05M酢酸水溶液と0. 05M酢酸100%アセトニトリル溶液のグラジエントを用い、ODSカラムを用いて、紫外線吸光度計等により検出することで確認することができる。
- [0025] 本発明においてガリックアシッドに対する相対保持時間が0. 54～0. 61の時間領域に実質的にピークを有しないとは、ガリックアシッドの1ppm溶液を分析時の面積値をS1とし、同条件でコーヒー飲料組成物を分析した時の前記特定の領域に溶出する成分に由来するピーク面積の総和をS2としたとき、 $S2/S1 < 0.01$ であることを意味する。
- [0026] 本発明のコーヒー飲料組成物には、所望により、ショ糖、グルコース、フルクトース、キシロース、果糖ブドウ糖液、糖アルコール等の糖分、乳成分、抗酸化剤、pH調整剤、乳化剤、香料等を添加することができる。乳成分としては、生乳、牛乳、全粉乳、

脱脂粉乳、生クリーム、濃縮乳、脱脂乳、部分脱脂乳、れん乳等が挙げられる。本発明のコーヒー飲料組成物のpHとしては、3ー7. 5、更に4ー7、特に5ー7が飲料の安定性の面で好ましい。

[0027] ソリュブルコーヒー組成物とは粉体状のインスタントコーヒー粉体等の粉体食品のことである。インスタントコーヒー粉体は、常法にしたがって製造することができる。例えばコーヒー抽出液をノズルからスプレーし、約210ー310°Cの熱風中を落下させることにより、多孔質、水可溶性のコーヒー粉末にする噴霧乾燥(スプレードライ)、あるいはコーヒー抽出物を液体窒素や冷凍庫等で凍結し、粉碎し、篩別したのち真空で水分を昇華させて、水分を3%以下にする凍結乾燥(フリーズドライ)等により乾燥粉体を得ることができる。

[0028] 本発明のコーヒー飲料組成物又はソリュブルコーヒーはPETボトル、缶(アルミニウム、スチール)、紙、レトルトパウチ、瓶(ガラス)等の容器に詰めることができる。この場合、本発明のコーヒー飲料組成物はそのまで50ー2500mLの容器詰飲料とすることができる。容器詰飲料のpHとしては5ー7. 5が好ましく、特に5. 4ー7が好ましい。容器としては、コーヒー中の成分の変化を防止する観点から、酸素非透過性の容器が好ましく、例えば、アルミニウムや、スチールなどの缶、ガラス製のビン等を用いるのが良い。缶やビンの場合、リキャップ可能な、リシール型のものも含まれる。ここで酸素非透過性とは、20°C、相対湿度50%の環境下で測定した酸素透過度(cc・mm/m²・day・atm)が5以下であることをいうが、更に3以下、特に1以下であればより好ましい。

また本発明のソリュブルコーヒーは1gあたり25ー500mLの水又はお湯に溶解して飲むことができる。

[0029] 容器詰飲料にする場合、通常殺菌処理が行われるが、当該殺菌処理は、金属缶のように容器に充填後、加熱殺菌できる場合にあっては食品衛生法に定められた殺菌条件で行われる。PETボトル、紙容器のようにレトルト殺菌できないものについては、あらかじめ食品衛生法に定められた条件と同等の殺菌条件、例えばプレート式熱交換器で高温短時間殺菌後、一定の温度迄冷却して容器に充填する等の方法が採用される。また無菌下で加熱殺菌後、無菌下でpHを中性に戻すことや、中性下で加熱

殺菌後、無菌下でpHを酸性に戻す等の操作も可能である。

実施例

[0030] 実施例1

(焙煎コーヒーが体内過酸化水素量に与える影響)

(a) 焙煎コーヒーの調製

インスタントコーヒー(ネスカフェカフェインレス)4gをミネラルウォーター280mLに溶解した。この時コーヒー280mL中のクロロゲン酸量は210mg、HHQ量は2.6mgとなる。

[0031] (b) 得られたコーヒー280mLを健常男性6名に飲用させ、その後1～5時間後に尿中過酸化水素量を測定した。なお、尿中過酸化水素量は、FOX(ferrous ion oxidation-xylenol orange)アッセイにより測定した。

[0032] その結果、図1に示すように、焙煎コーヒーの飲用により、ヒトの尿中過酸化水素量は増加することがわかる。

[0033] 実施例2

(過酸化水素除去コーヒーが体内過酸化水素量に与える影響)

(a) 焙煎コーヒー

インスタントコーヒー(ネスカフェカフェインレス)10gを26mLの蒸留水に溶解した。

[0034] (b) 過酸化水素除去コーヒー

インスタントコーヒー(ネスカフェカフェインレス)10gを23mLの蒸留水に溶解し、3mLのカタラーゼ溶液(セントラル科学)を添加した。

[0035] (c) 上記(a)及び(b)で得られたコーヒーを、6週齢のSD系雄性ラット($n=4$)に強制経口投与(10mL/kg)した。投与後3時間目に採尿し、尿中過酸化水素量を測定した。なお、尿中過酸化水素量はFOX(ferrous ion oxidation-xylenol orange)アッセイにより測定した。

[0036] その結果、図2に示すように、焙煎コーヒーの摂取により尿中過酸化水素量は増加し、その増加率は焙煎コーヒーから過酸化水素を除去してもほとんど変化しなかった。このことから、焙煎コーヒーを摂取することにより体内で新たに過酸化水素が生成することがわかる。

[0037] 実施例3

(体内で過酸化水素を生成させる成分)

(a) 焙煎コーヒー

インスタントコーヒー(ネスカフェカフェインレス)を下記の溶離液Aに溶解し、20mg/mLのコーヒー溶液を作製した。

[0038] この焙煎コーヒー中のヒドロキシヒドロキノン量を定量したところ、0.0013質量%であった。ここで焙煎コーヒー中のヒドロキシヒドロキノンの分析法は次の通りである。以下の分析条件を分析条件Aとする。分析機器はHPLC(島津製作所(株))を使用した。装置の構成ユニットの型番は次の通り。ディテクター:SPD-M10A、オーブン:CTO-10AC、ポンプ:LC-10AD、オートサンプラー:SIL-10AD、カラム:Inertsil ODS-2 内径4.6mm×長さ250mm。

[0039] 分析条件は次の通り。サンプル注入量:10 μL、流量:1.0mL/min、紫外線吸光光度計検出波長:290nm、溶離液A:0.05M酢酸3%アセトニトリル溶液、溶離液B:0.05M酢酸100%アセトニトリル溶液

[0040] 濃度勾配条件

時間	溶離液A	溶離液B
0分	100%	0%
20分	80%	20%
35分	80%	20%
45分	0%	100%
60分	0%	100%
70分	100%	0%
120分	100%	0%

[0041] ヒドロキシヒドロキノンのリテンションタイム:5.5分。ここで求めたエリアからヒドロキシヒドロキノンを標準物質とし、質量%を求めた。

[0042] また、コーヒー組成物中のヒドロキシヒドロキノンは以下の分析法によつても測定できる。以下の分析条件を分析条件Bとする。分析機器はHPLC(日立製作所(株))を使用した。装置の構成ユニットの型番は次の通り。ディテクター:L-7455、オーブン:L

—7300、ポンプ:L—7100、オートサンプラー:L—7200、カラム:Inertsil ODS—2 内径4. 6mm×長さ250mm。

[0043] 分析条件は次の通り。サンプル注入量:10 μ L、流量:1. 0mL/min、紫外線吸光光度計検出波長:258又は288nm、溶離液A:0. 05M酢酸水溶液、溶離液B:0. 05M酢酸100%アセトニトリル溶液

[0044] 濃度勾配条件

時間	溶離液A	溶離液B
0分	100%	0%
15分	100%	0%
15. 1分	0%	100%
25分	0%	100%
25. 1分	100%	0%
30分	100%	0%

[0045] ヒドロキシヒドロキノンの保持時間:6. 8分。ここで求めたエリアからヒドロキシヒドロキノンを標準物質とし、質量%を求めた。同様に測定したガリックアシッドの保持時間は11. 5分であった。

[0046] (b)インスタントコーヒー(ネスカフェカフェインレス)2. 4g/kg(ヒドロキシヒドロキノンとして1. 6mg/kg)、ヒドロキシヒドロキノン1. 6mg/kgを、7週齢のSD系雄性ラット(n=4)に強制経口投与した。投与前及び投与後3時間、6時間目に採尿し、実施例2と同様にして尿中過酸化水素量を測定した。

[0047] その結果、図3に示すように、ヒドロキシヒドロキノン及び焙煎コーヒー摂取群では摂取後3時間目の尿中過酸化水素量が有意に増加し、増加した尿中過酸化水素量はヒドロキシヒドロキノン及び焙煎コーヒー摂取群で同程度であった。これにより、コーヒー中の体内過酸化水素生成物質がヒドロキシヒドロキノンであることが判明した。

[0048] 実施例4

7週齢のSD系雄性ラット(n=3)に、ヒドロキシヒドロキノン(0. 1、0. 3、1及び3mg/kg)を強制経口投与した。投与前及び投与後3時間、6時間目に採尿し、実施例2と同様にして尿中過酸化水素量を測定した。

[0049] その結果、図4に示すように、0.3mg/kg以上のヒドロキシヒドロキノンの摂取によって、用量依存的に体内の過酸化水素が増加することが判明した。

[0050] 実施例5

本発明のコーヒー飲料組成物は次のように製造した。インスタントコーヒー(ネスカブエカフェインレス)2.5gをODS充填剤(YMC GEL ODS-A 細孔径6nm 粒子径150μm)500gを充填したカラムにアプライし、0.5%酢酸水6Lでヒドロキシヒドロキノンを含む画分を溶出し、ヒドロキシヒドロキノンを含まない画分はメタノール6Lで溶出した。ヒドロキシヒドロキノンを含まない画分Aは凍結乾燥法によりメタノールを完全に除去した。インスタントコーヒー2.5gから画分Aは0.933g得られた。画分Aを実施例3に示した方法で分析したところ、画分A中のヒドロキシヒドロキノンは検出できなかった。画分A 0.75gを140mLの水に溶解することにより、本発明のコーヒー飲料組成物を作製した。

尚、本発明の発明のコーヒー飲料組成物中の過酸化水素量を高感度過酸化水素計を用いて測定したところ、過酸化水素量は検出限界以下であり検出されなかった。過酸化水素の分析法は次の通りである。測定は、高感度過酸化水素計SUPER O RITECTOR MODEL 5(セントラル科学(株))にて行った。試料2mLをホールピペットにて精秤し、装置本体の反応セルに注入した。反応セルを密栓した後、測定レンジを選択し、測定用スイッチを押して測定を開始した。測定準備が整ったことを知らせる発信音を確認後、速やかにオリテクター用カタラーゼ20μLをマイクロシリジにて注入し、出力値を読み取った。

[0051] 装置の校正は、0.1、1、および5mg/Lの過酸化水素標準液にて行った。

過酸化水素標準液の調製は、過酸化水素(30%水溶液、特級、和光純薬工業(株))を、イオン交換水にて1,000mg/Lに希釀したものを原液として使用した。原液を抽出用溶液にて希釀し、過酸化水素標準液 5mg/Lを調製した。更に、過酸化水素標準液 5mg/L溶液を抽出用溶液にて希釀し、1mg/Lおよび0.1mg/Lを調製した。

[0052] 抽出用溶液(0.5%臭素酸カリウム含有0.2Mリン酸緩衝液、pH7.0)は、リン酸ニ水素カリウム(特級)11.0g、リン酸水素ニナトリウム12水和物(特級)44.8g、およ

び臭素酸カリウム(特級)5. 0gをイオン交換水に溶解した後、1Lに定容して調製した。使用時は、あらかじめ氷冷下で1時間以上窒素ガスを通気した。

[0053] 実施例6

本発明のソリュブルコーヒーは実施例5で得られた画分Aを粉碎することにより作製した。

[0054] 実施例7

本発明品のコーヒー飲料組成物は次の方法でも製造した。

活性炭処理コーヒーの製造

市販インスタントコーヒー(ネスカフェゴールドブレンド赤ラベル)20gを、蒸留水1400mLに溶解したのち(このコーヒーをコーヒーPという)、活性炭白鷺WH₂c 28/42(日本エンバイロケミカルズ)を30g加え、1時間攪拌したのち、メンブレンフィルター(0. 45 μ m)を用いてろ過し、ろ液を得た(このコーヒーをコーヒーQという)。得られたろ液を、凍結乾燥し、褐色粉末15. 8gを得た。この褐色粉末を蒸留水に溶解し、実施例1と同様にしてHPLC分析により、クロロゲン酸及びHHQの定量を行なったところ、クロロゲン酸は4. 12質量%含まれ、HHQは検出限界以下(分析条件Bによる)であった。また、ICP発光分光分析法でカリウム含量を測定したところ、原料インスタントコーヒー及び活性炭処理コーヒーのいずれも約4. 2質量%であった。コーヒーP、コーヒーQ、及びガリックアシッドをHPLCを用いて分析すると図5及び6に示すチャートが得られた。コーヒーQにおいては保持時間6. 8分付近のピークが消失し実質的にピークを有していない。図5におけるaはコーヒーPのチャートを、bはコーヒーQのチャートを、cはガリックアシッドのチャートを示す。図6におけるbはコーヒーPのチャートを、cはコーヒーQのチャートを、aはガリックアシッドのチャートを示す。

また、本発明のコーヒー飲料組成物中のヒドロキシヒドロキノン(HHQ)量の測定は以下の方法でも行った。

[0055] ヒドロキシヒドロキノンの測定

コーヒー飲料組成物のヒドロキシヒドロキノンの分析法は次の通りである。分析機器はHPLC-電気化学検出器(クロメトリック型)であるクロアレイシステム(モデル5600A、開発・製造:米国ESA社、輸入・販売:エム・シー・メディカル(株))を使用し

た。装置の構成ユニットの名称・型番は次の通りである。

アナリティカルセル:モデル5010、クロアレイオーガナイザー、クロアレイエレクトロニクスモジュール・ソフトウェア:モデル5600A、溶媒送液モジュール:モデル582、グラジエントミキサー、オートサンプラー:モデル542、パルスダンパー、デガッサー:Degasys Ultimate DU3003、カラムオーブン:505。カラム:CAPCELL PAC C18 AQ 内径4.6mm×長さ250mm 粒子径5 μ m((株)資生堂)。

分析条件は次の通りである。

サンプル注入量:10 μ L、流量:1.0mL/min、電気化学検出器の印加電圧:0mV、カラムオーブン設定温度:40°C、溶離液A:0.1(W/V)%リン酸、0.1mM 1-ヒドロキシエタン-1, 1-ジホスホン酸、5(V/V)%メタノール溶液、溶離液B:0.1(W/V)%リン酸、0.1mM 1-ヒドロキシエタン-1, 1-ジホスホン酸、50(V/V)%メタノール溶液。

[0056] 溶離液AおよびBの調製には、高速液体クロマトグラフィー用蒸留水(関東化学(株))、高速液体クロマトグラフィー用メタノール(関東化学(株))、リン酸(特級、和光純薬工業(株))、1-ヒドロキシエタン-1, 1-ジホスホン酸(60%水溶液、東京化成工業(株))を用いた。

[0057] 濃度勾配条件

時間	溶離液A	溶離液B
0.0分	100%	0%
10.0分	100%	0%
10.1分	0%	100%
20.0分	0%	100%
20.1分	100%	0%
50.0分	100%	0%

[0058] 分析試料の調製は、試料2gを精秤後、溶離液Aにて10mLにメスアップし、メンブレンフィルター(HLC-DISK25溶媒系、孔径0.45 μ m、高速液体クロマトグラフィー用、関東化学(株))にて濾過した。得られた濾液約2.5mLについて、ボンドエルートSCX(固相充填量:500mg、リザーバ容量:3mL、ジーエルサイエンス(株))に

通液し、初通過液約0.5mLを除いた通過液を、速やかに分析に供した。

[0059] 上記の条件における分析において、ヒドロキシヒドロキノンの保持時間は、6.38分であった。得られたピークの面積値から、ヒドロキシヒドロキノン(和光純薬工業(株))を標準物質とし、質量%を求めた。

尚、本発明の発明のコーヒー飲料組成物中の過酸化水素量を高感度過酸化水素計を用いて測定したところ、過酸化水素量は検出限界以下であり検出されなかつた。また、コーヒーPの灰分量は、前述の測定法により測定したところ、コーヒー飲料100gあたりの量で表すと、186mg／100gであり、コーヒーQの灰分量は176mg／100gであった。

[0060] 実施例8

ラットにおける焙煎コーヒーと実施例7で製造した活性炭処理コーヒー(本発明コーヒー飲料組成物)の体内過酸化水素量に対する影響

(a) 焙煎コーヒーの調製

インスタントコーヒー(ネスカフェカフェインレス)8gを12mLの蒸留水に溶解した。

(b) 活性炭処理コーヒーの調製

実施例7で製造した活性炭処理コーヒー8gを12mLの蒸留水に溶解した。(c) 上記(a)及び(b)で得られたコーヒーを、7週齢のSD系雄性ラット(n=8)に強制経口投与(10mL/kg)した。投与前及び投与後3時間、6時間目に採尿し、実施例2と同様にして尿中過酸化水素量を測定した。

その結果、図7に示すように、焙煎コーヒー摂取群では摂取後3時間目の尿中過酸化水素量が蒸留水摂取群に比べて有意に増加するが、活性炭処理コーヒー摂取群では蒸留水摂取群と同等であることがわかる。

[0061] 実施例9

ヒトにおける焙煎コーヒーと活性炭処理コーヒー(本発明コーヒー飲料組成物)の体内過酸化水素量に対する影響

(a) 焙煎コーヒーの調製

インスタントコーヒー(ネスカフェカフェインレス)4.5gをミネラルウォーター280mLに溶解した。

(b) 活性炭処理コーヒーの調製

実施例7で製造した活性炭処理コーヒー4.5gをミネラルウォーター280mLに溶解した。

(c) 上記(a)及び(b)で得られたコーヒー280mLを健常男性7名に飲用させ、その後1～5時間後に尿中過酸化水素量を測定した。また試験はクロスオーバーを行った。

実施例2と同様にして尿中過酸化水素量を測定した。

その結果、図8に示すように、焙煎コーヒーの飲用により、ヒトの尿中過酸化水素量は増加するが、本発明コーヒー組成物の活性炭処理コーヒーでは増加しないことがわかる。

[0062] 実施例11

一般的抽出機に中煎り($L=22$)・粉碎(中挽き)デカフェコロンビア豆を400g投入後、95°Cの湯を加え3200gの抽出液を得る。その抽出液の固形量に対し、50%(w/w)の活性炭WH2C(日本エンバイロケミカル社製)を添加し、30分間攪拌後、遠心ろ過を行い活性炭除去し、脱HHQコーヒー抽出液を得る。その脱HHQコーヒー抽出液にイオン交換水及び重曹をpH6.3になる様に加え調合液を得る。その調合液を190g容金属缶に充填・密封後、118.1°Cにて10分のレトルト殺菌を行い、缶コーヒーを得た。殺菌後のpHは5.8であった。

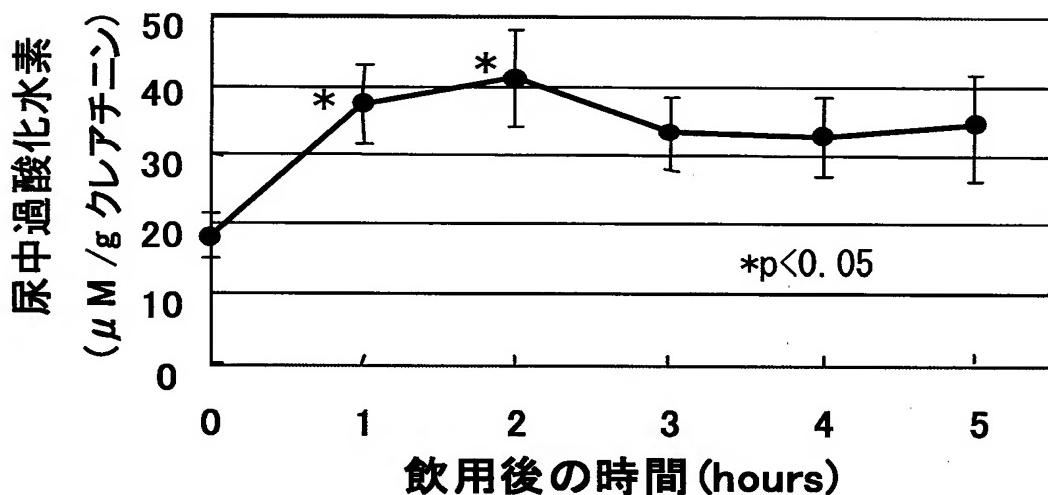
[0063] 実施例12

実施例7で得られた凍結乾燥品をそのまま粉末コーヒーとした。

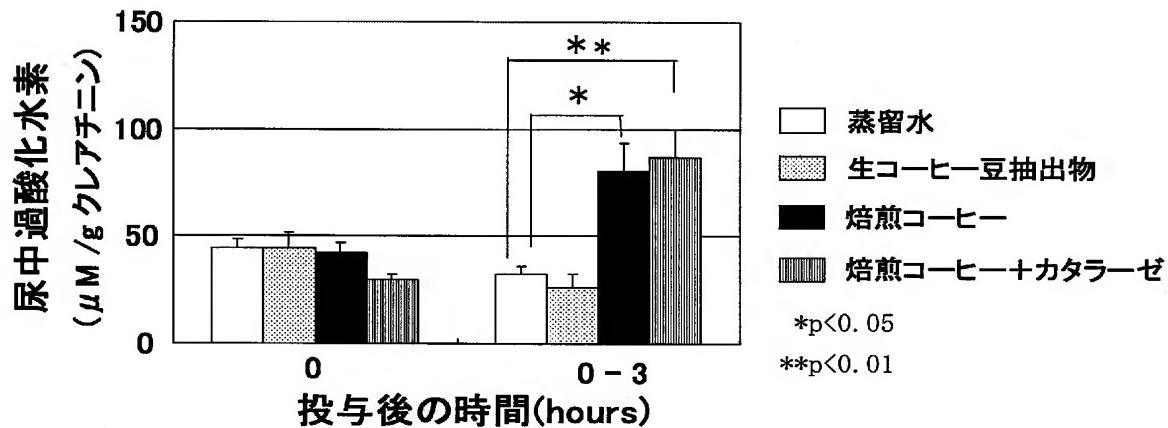
請求の範囲

- [1] ヒドロキシヒドロキノン含有量が0～0. 00005質量%であるコーヒー飲料組成物。
- [2] 高速液体クロマトグラフィーによる分析における、ガリックアシッドを標準物質とした場合のガリックアシッドに対する相対保持時間が0. 54～0. 61の時間領域に、実質的にピークを有しないことを特徴とするコーヒー飲料組成物。
- [3] ヒドロキシヒドロキノン含有量が0～0. 001質量%であるソリュブルコーヒー組成物。
- [4] ヒドロキシヒドロキノン含有量が0～0. 00005質量%であるコーヒー飲料組成物を充填した容器詰飲料。
- [5] 高速液体クロマトグラフィーによる分析における、ガリックアシッドを標準物質とした場合のガリックアシッドに対する相対保持時間が0. 54～0. 61の時間領域に、実質的にピークを有しないことを特徴とするコーヒー飲料組成物を充填した容器詰飲料。
- [6] 焙煎コーヒー豆抽出物を活性炭で処理することを特徴とする請求項1又は2記載のコーヒー飲料組成物の製造法。
- [7] 活性炭が、塩化亜鉛法又は水蒸気賦活化法により活性化されたものである請求項6記載の製造法。
- [8] 焙煎コーヒー豆抽出物を活性炭で処理することによりコーヒー飲料組成物を得、次いで該コーヒー飲料組成物を噴霧乾燥又は凍結乾燥することを特徴とする請求項3記載のソリュブルコーヒー組成物の製造法。

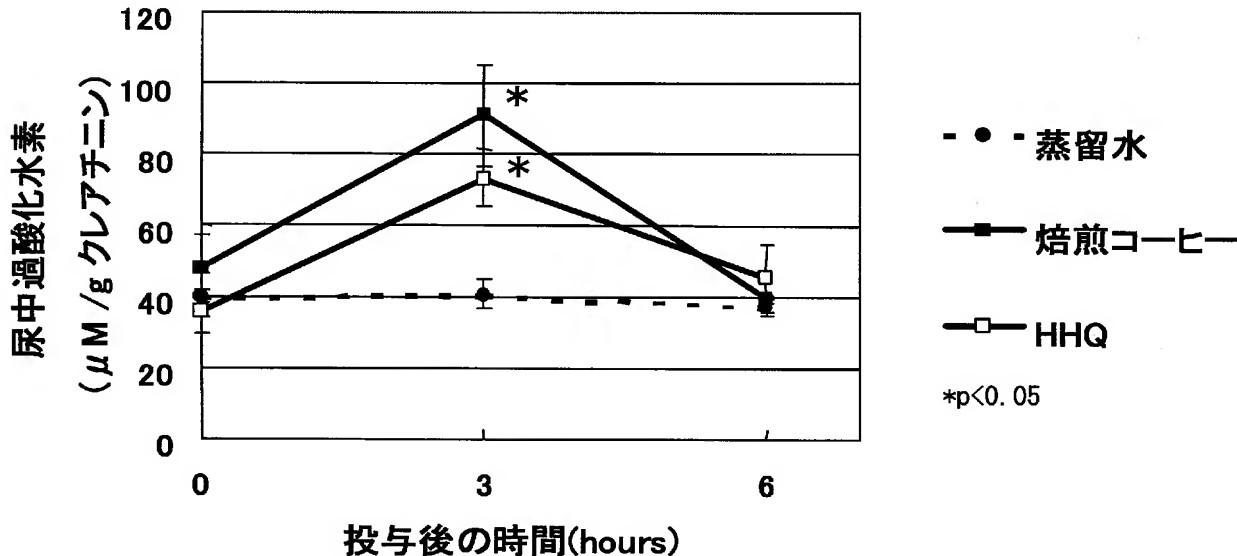
[図1]



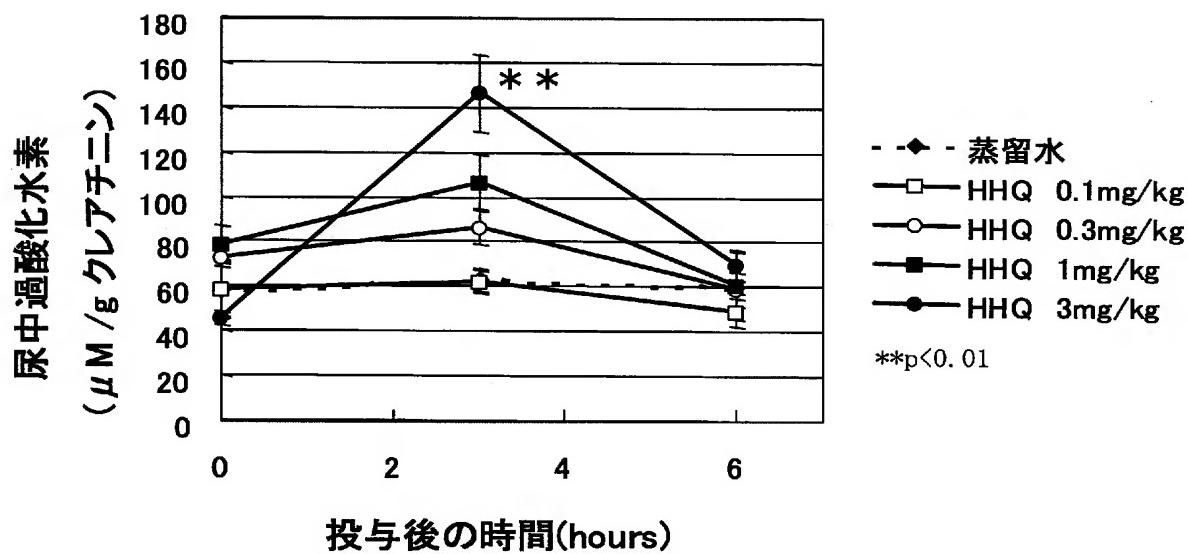
[図2]



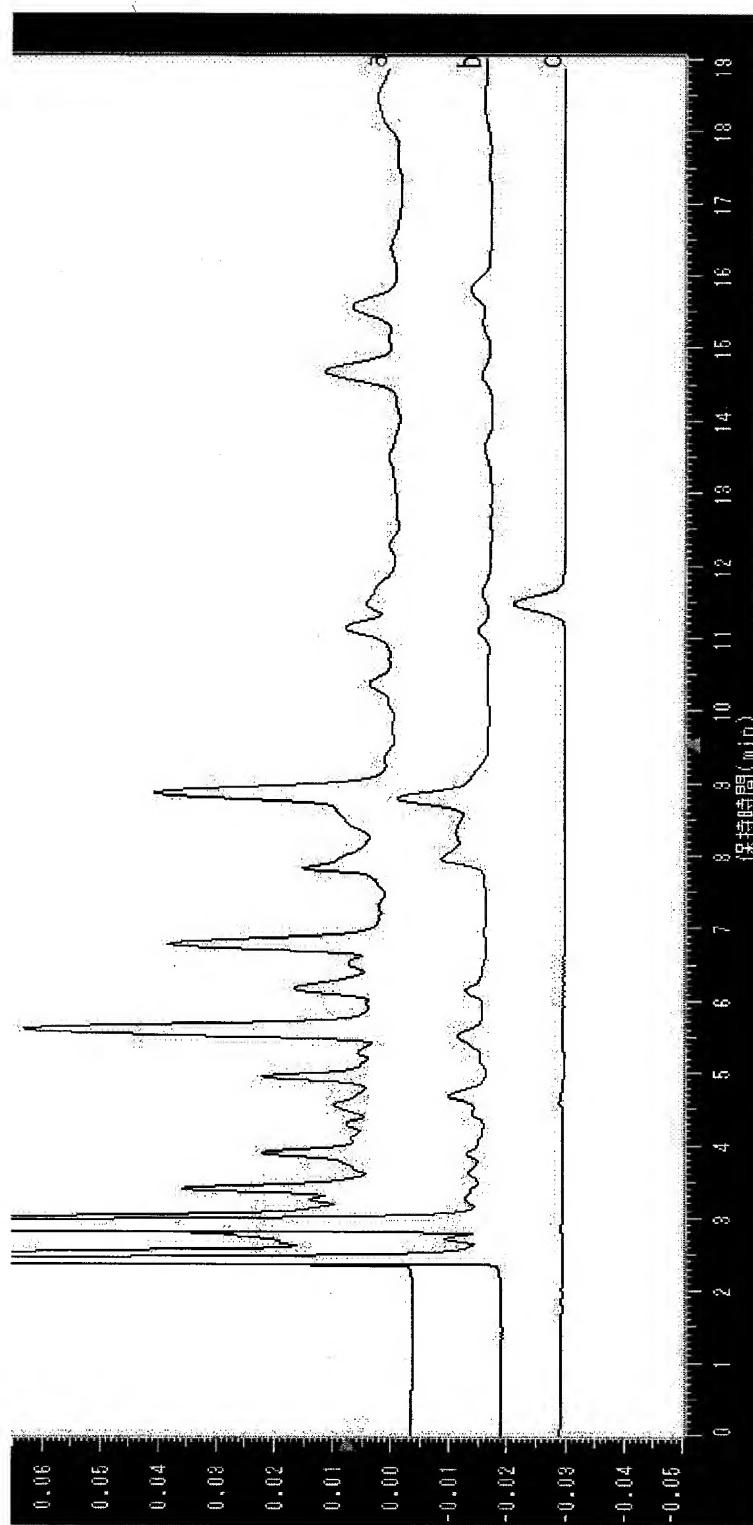
[図3]



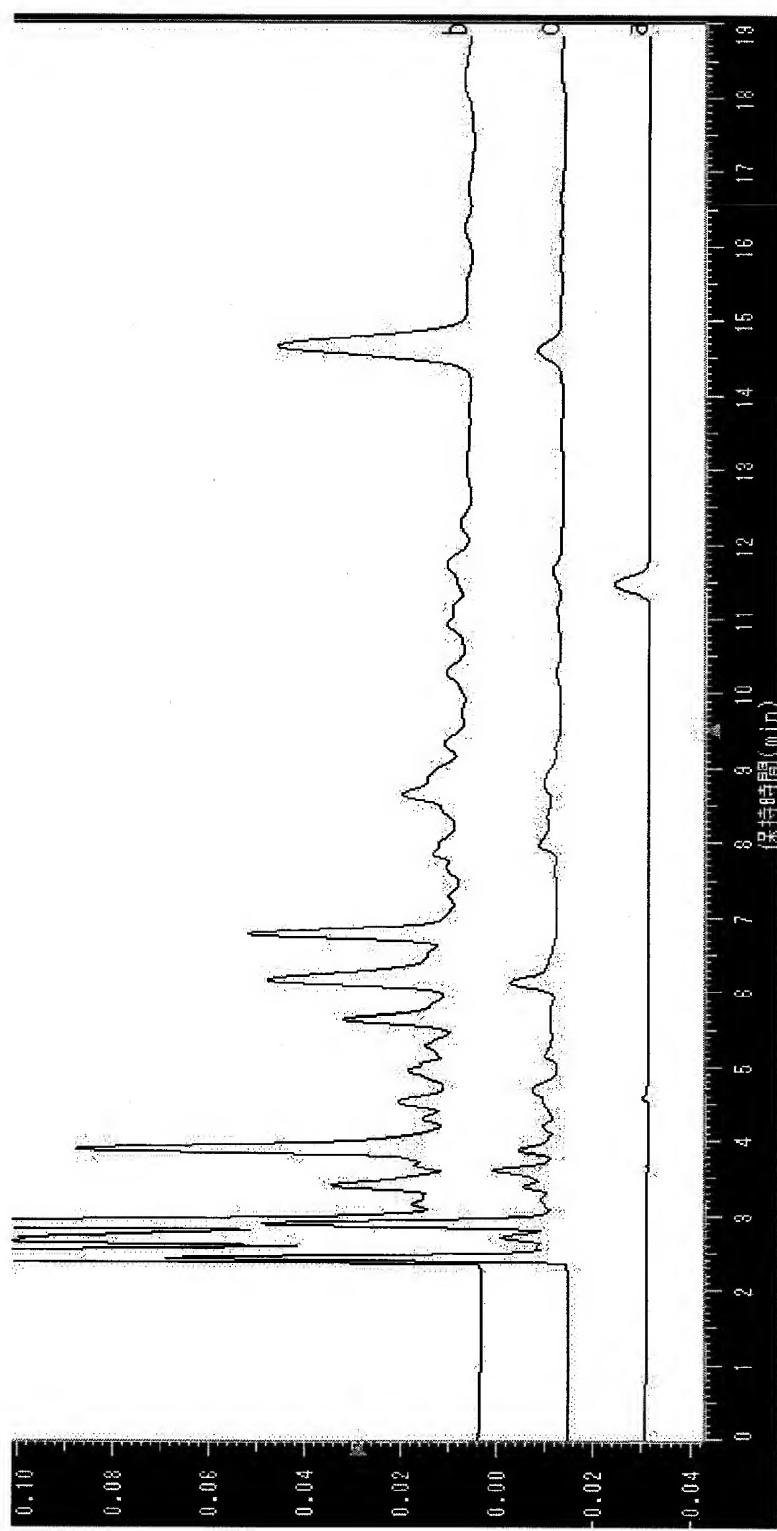
[図4]



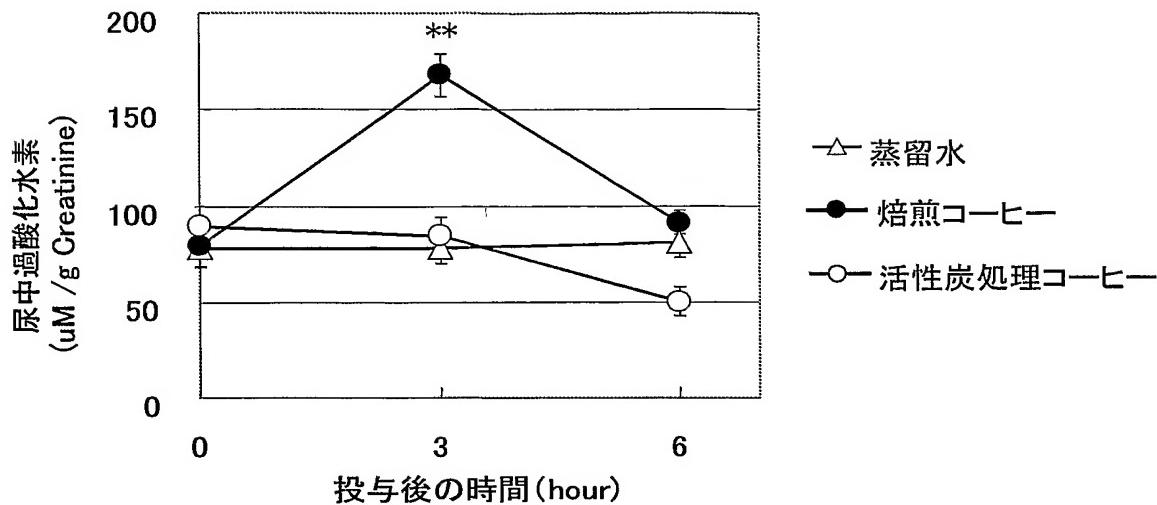
[図5]



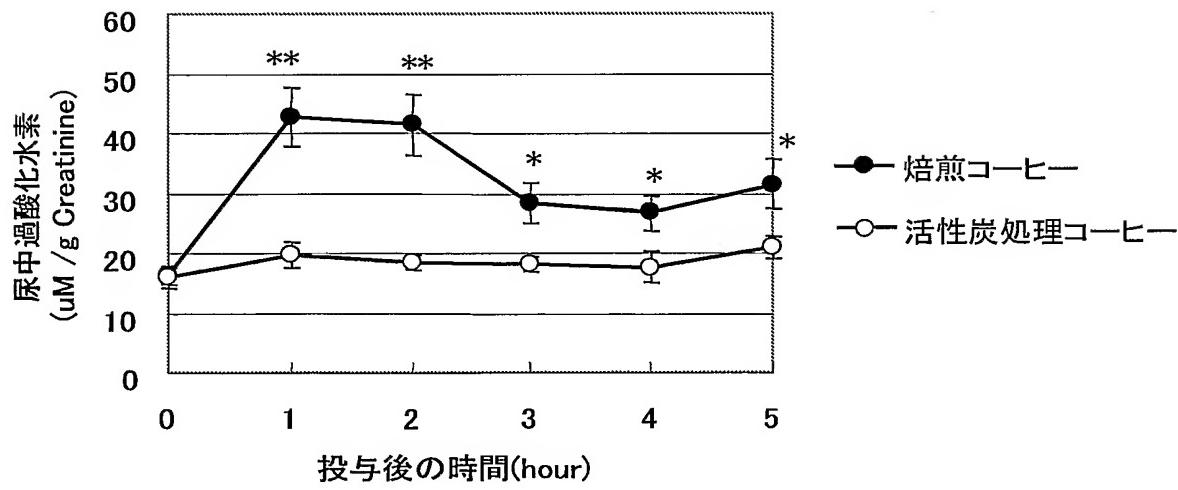
[図6]



【図 7】



【図 8】



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/001093

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ A23F5/24, 5/16

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A23F5/24, 5/16

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2005
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2005	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2005

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 7-313063 A (UNICAFE INC.), 05 December, 1995 (05.12.95), (Family: none)	1-6, 8 7
X	JP 2003-304812 A (Mitsubishi Rayon Co., Ltd.), 28 October, 2003 (28.10.03), (Family: none)	1-6, 8 7
X	JP 57-28089 A (GENERAL FOODS CORP.), 15 February, 1982 (15.02.82), & CA 1177313 A	1-6, 8 7
X	JP 5-111437 A (Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.), 07 May, 1993 (07.05.93), (Family: none)	1-6, 8 7

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
06 April, 2005 (06.04.05)

Date of mailing of the international search report
26 April, 2005 (26.04.05)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/001093

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 6-315434 A (Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.), 15 November, 1994 (15.11.94), (Family: none)	1-6, 8
Y	JP 10-4919 A (Toyo Seoto Kabushiki Kaisha), 13 January, 1998 (13.01.98), (Family: none)	7
A	JP 4-360647 A (Takasago International Corp.), 14 December, 1992 (14.12.92), (Family: none)	1-8

A. 発明の属する分野の分類(国際特許分類(IPC))

Int.Cl.⁷ A23F5/24, 5/16

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料(国際特許分類(IPC))

Int.Cl.⁷ A23F5/24, 5/16

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2005年
日本国実用新案登録公報	1996-2005年
日本国登録実用新案公報	1994-2005年

国際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 7-313063 A(株式会社ユニカフェ)1995.12.05(ファミリーなし)	1-6, 8
Y		7
X	JP 2003-304812 A(三菱レイヨン株式会社)2003.10.28(ファミリーなし)	1-6, 8
Y		7
X	JP 57-28089 A(GENERAL FOODS CORP)1982.02.15 & CA 1177313 A	1-6, 8
Y		7
X	JP 5-111437 A(松下電器産業株式会社)1993.05.07(ファミリーなし)	1-6, 8
Y		7

 C欄の続きにも文献が列挙されている。

〔 パテントファミリーに関する別紙を参照。 〕

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献(理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

06.04.2005

国際調査報告の発送日

26.4.2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官(権限のある職員)

小石 真弓

4N 9727

電話番号 03-3581-1101 内線 3402

C (続き) 関連すると認められる文献		関連する 請求の範囲の番号
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	
X	JP 6-315434 A(松下電器産業株式会社)1994.11.15(ファミリーなし)	1-6, 8
Y		7
Y	JP 10-4919 A(東洋精糖株式会社)1998.01.13(ファミリーなし)	7
A	JP 4-360647 A(高砂香料工業株式会社)1992.12.14(ファミリーなし)	1-8